

УДК 616.6 - 007.1- 06: 613. 168: 615. 37

## **НАСЛІДКИ ДІЇ 7% СПИРТОВОЇ НАСТОЯНКИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ НА МОРФОЛОГІЧНУ БУДОВУ ЯЄЧОК ЩУРІВ**

О.М. Шарапова

ДЗ “Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України” (м. Дніпро)

**Реферат.** У результаті проведеного дослідження встановлено, що імуномодулятор 7% спиртова настоянка ехінацеї пурпурової в яєчках щурів дослідної групи викликає незначні морфологічні зміни у вигляді збільшення кількості епітеліальних шарів до 4-5, появи більшої кількості клітин на всіх стадіях сперматогенного циклу, починаючи від сперматозоонів до сперматозоїдів. Також встановлено, що після вживання тваринами 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової поміж прошарками базальної мембрани кількості рідини не збільшилося. Проміж клітинами Сертолі, міоїдними клітинами відновлювалися десмосомні контакти.

Після введення тваринам 7% спиртової настоянки ехінацеї пурпурової морфологічні зміни в яєчках визначалися у розширенні площі сперматогенної тканини, що позначилося у збільшенні середнього значення великого діаметра звивистих сім'яних канальців до  $0,265 \pm 0,034$  мм. Встановлено, що ендокриноцити розташовувалися між звивистими сім'яними канальцями в інтерстиційній тканині близько до кровоносних судин.

**Ключові слова:** настоянка ехінацеї пурпурової, щур, яєчко, звивисті сім'яні канальці.

## **THE EFFECTS OF 7% ALCOHOL TINCTURES OF ECHINACEA PURPUREA ON THE MORRHOLOGICAL STRUCTURE OF TESTES OF RATS**

Ye.N. Sharapova

**ABSTRACT. Background.** The search of drugs that improve the morphological condition of the testicles of humans and animals that have been subjected to the action of harmful factors of the external environment, in particular the

electromagnetic field is the actual problem of modern morphology today. The authors in this study tried to investigate the effects of 7% alcohol tincture of *Echinacea purpurea* by identifying morphological changes in testicles of rats. **Objective.** The aim of the study was to determine the morphological changes in testicles of rats after using them immunomodulator - 7% alcohol tincture of *Echinacea purpurea*. **Methods.** Experimental group consisted of 35 white rats-males weighing 180-200g, control group - 6 males. Animals of the experimental group was administered intragastrically 7% alcohol tincture of *Echinacea purpurea* based 0,0018 mg/kg weight of the animals for five days. After the experiment the animals were euthanized by cervical dislocation, the animals were removed from the testes. Methylene blue and sodium tetraborate used during the manufacture of histological preparations for coloring the slices. The preparations were photographed using digital camera and microscope «LEICA CME» (lens Plan 4x  $\infty$ /-, 10x  $\times$ /0.25, 40x  $\times$ /0.65  $\infty$ /0.17). Micromorphometric study of the objects was carried out on the complex, composed of microscope «LEICA CME», digital camera Olympus with five-megapixel matrix, which is connected to the microscope by system of adapters of the same company. Expected The large diameter of convoluted seminiferous tubules of the testes is expected. The results of the study were evaluated using the methods of variation statistics. **Results.** It was ascertained during the investigation that the morphological changes were taking place in the animals' testes injected immunomodulator. Those changes slightly differed from the structure of the control animals' testes. Tunica albuginea of testicles was of the same structure as in the testes of the animals of the control group, the cell dissemination was not observed. Convoluted seminiferous tubules are closely adjoined to each other, have rounded or oval forms. The layers of basal membrane retained its orientation, edematous effects were not observed, there was not a delamination of basal membrane. 4-5 spermatogenic epithelial layers, where germ cells at all stages of the spermatogenic cycle: spermatozoon, spermatocytes, spermatids 1, 2 order and spermatozoa are determined on the basal membrane. The gametes at all stages development were present in greater numbers comparing with the control animals' testicles in sight of

the microscope. The large diameter average values of the rats' tests convoluted seminiferous tubules consumed the immunomodulator increased in comparison with the animals' control group to  $0.252 \pm 0.036$  mm ( $p < 0.005$ ). It attested the improvement in the testicles' spermatogenic function. **Conclusion.** Moderate venostasis in the arterial and venous link of the testicular ovarian blood stream was observed in rats after application of Echinacea purple tincture. Mild arterial edema was manifested more than in the venous bed in the structure of the rats' microcirculatory bed of testicles after their using of immunomodulator. The vacuoles in a limited number were present in Sertolli cells. Desmosome contacts recovered between Sertolli cells. The spermatocytes and spermatids at different stages of differentiation were adjoined on lateral surfaces of the bay-like recess. Mature spermatozoa were in the lumen of the tubules tails forward. Sertolli cells fully perform all of the functions that are inherent in interstitial endocrinocytes: produce testosterone, substances that contribute to its formation. They regulated reducing of production of follicle stimulating hormone so.

**Keywords:** tincture of Echinacea purpurea, rat, testicle, convoluted seminiferous tubules.

Дана робота є фрагментом теми: «Морфофункціональний стан органів і тканин експериментальних тварин та людини в онтогенезі в нормі та під впливом зовнішніх і внутрішніх чинників» (2017-2019pp., № держреєстрації 0117U003181).

**Вступ** До теперішнього часу дослідниками продовжується пошук лікарських засобів, що можуть використовуватися в терапії та хірургії чоловічих статевих органів, які б покращували імунний статус взагалі і кровопостачання органів зокрема. Одним із таких препаратів є Гінкго білоба, ефекти якого на яєчка щурів, що знаходилися в умовах гіпотермії, простежувалися у роботах Пастухової В.А.[3]. Буланкін Д.Г. відзначав позитивні ефекти Гінкго білоба на кровопостачання органів [4]. Також подібними ефектами володіють препарати, у склад яких входить екстракт з

листя хмелю звичайного та гарбузове насіння, що мають репаративні, спазмолітичні, антимікробні та антиандрогенні властивості [5]. Музика Н.Я. також вважає перспективною групою для лікування чоловічих статевих органів препарати на основі рослинної сировини [6]. Автор приділила увагу вивченню природним сполукам, а саме комплексу біологічно активних речовин (БАР), вилучених з суцвітть вільхи, берези – «Альтабор». Субстанція "Альтабору" має такі позитивні ефекти дії на чоловічі статеві органи, як репаративні, протизапальні та антиоксидантні. За даними Крутських Т.В. субстанція "Альтабору" не чинить алергізуючої, імунотоксичної, місцево подразнювальної і гонадотоксичної дії [7;8], що має суттєве значення для підвищення ефективності терапії захворювань чоловічих статевих органів. Гриценко В. І. довів доцільність використання порошків рослинних екстрактів з метою створення супозиторіїв для лікування захворювань передміхурової залози [9].

До препаратів, що мають імуномодельюючі властивості, відноситься 7% спиртова настоянка ехінацеї пурпурової. Цей препарат регулює стан імунної системи живих організмів, тобто належить до імуномодуляторів. Також цей препарат володіє ранозагоючими, радіопротекторними, імунорегулюючими, антиоксидантними властивостями [10;11]. Одним із важливих складових цього препарату є те, що він впливає на структуру епітеліоцитів кровоносних судин органів, тобто має епітеліопозитивний ефект.

**Мета** - встановлення морфологічних змін у структурі яєчок щурів, що вживали імуномодулятор - 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової.

**Матеріали та методи** У дослідженні використано 35 щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г, із них контрольна група складала 6 самців. Тваринам дослідної групи внутрішньошлунково вводили 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової з розрахунку 0,0018 мл/г маси тварини протягом одного, двох і п'яти днів (із понеділка по п'ятницю). Вивід тварин з експерименту проводився шляхом дислокації шийних хребців, із тварин вилучали яєчка.

З епоксидних блоків яєчок виготовляли напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм. Під час виготовлення гістологічних препаратів для забарвлення зрізів яєчок використовували метиленовий синій і тетраборнокислий натрій. На зрізи яєчок наносили однакове число крапель 1% водного розчину метиленового синього і 1% водного розчину бури. Декілька разів проводили скельце над полум'ям газового пальника, не допускаючи закипання рідини. Промивали під тонким струменем теплої водопровідної води, висушували, покривали бальзамом [2]. Проводили опис гістологічних препаратів під бінокулярним мікроскопом. Препарати фотографували за допомогою цифрової фотокамери та мікроскопу "LEICA CME" (об'єктив Plan 4<sup>x</sup><sub>∞</sub>/-, 10<sup>x</sup><sub>x/0.25</sub>, 40<sup>x</sup><sub>x/0.65</sub><sub>∞/0.17</sub>). Мікроморфометричне дослідження об'єктів здійснювали на комплексі, до складу якого входили мікроскоп "LEICA CME", цифровий фотоапарат Olympus (модель NO.E – 300DC 9V, № Я625517820) із п'ятимегапксельною матрицею, що з'єднаний з мікроскопом системою адаптерів виробництва цієї ж фірми. Вимірювали довжину великого діаметра звивистих сім'яних каналців яєчок із наступною статистичною обробкою одержаних результатів[1].

**Результати та їх обговорення** Яєчка щурів контрольної групи мали наступний вигляд: білкова оболонка не змінена, звивисті сім'яні каналці щільно прилягали один до одного. Великий діаметр звивистих сім'яних каналців дорівнював  $0,226 \pm 0,030$  мм ( $p < 0,005$ ). На базальній мембрані розташовувалися світлі і темні сперматогонії, які мали округлу форму, укомплектовані по всій периферичній окружності мембрани, з ядрами овальної форми. Підтримуючі клітини Сертолі розташовувалися між сперматогоніями на базальній мембрані. Існували світлі і темні клітини. Суспендоцити досягали верхівками просвіту каналця. Клітини мали пірамідальну форму, з ядрами неправильної форми. У просвіті сім'яних каналців простежувалися всі клітини сперматогенезу, починаючи з сперматогоній до зрілих сперматозоїдів, що виходили з верхівок

суспендоцитів хвостиками вперед. Між сусідніми суспендоцитами існували зони щільних контактів.

На різних ділянках каналців сперматогенез мав різну стадію, спостерігалось диференціювання сперматид на шийку і хвіст. Ендокриноцити розташовувалися між сім'яними каналцями в інтерстиційній тканині близько до кровоносних судин. Форма однієї частини клітин округла або овальна, інші мали багатокутну форму. Ядра округлої, овальної або неправильної форми (рис.1). У кровоносній системі яєчок дослідної групи капіляри утворювали судинну мережу, що розгалужувалася в міжканалцевих проміжках яєчок. Спазмованих і спустошених ділянок у судинній мережі не спостерігалось. Ендотеліоцити та їх базальні мембрани були помірно набряклими. Дистрофічних змін ядер не спостерігалось. Люмінальна поверхня клітин залишалася гладкою. Відзначалось помірне повнокров'я артерій і вен. У веноулярній ланці судини не були набряклими, морфологічних змін ендотеліоцитів і їх ядер не відзначалось.

Рис. 1. Яєчко контрольного щура. Забарвлення метиленовим синім. Збільшення  $\times 400$ . 1 - звивистий сім'яний каналець; 2- базальна мембрана; 3 – сперматогонії; 4 – зрілі сперматозоїди.

У результаті дослідження встановлено, що в яєчках щурів, що одержували імуномодулятор – 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової в перший день відбувалися наступні зміни.

Яєчка мали такі ж розміри, як і яєчка контрольних тварин. Білкова оболонка яєчок залишалася незмінною у порівнянні з яєчками тварин контрольної групи, клітинної інфільтрації не відзначалось. Звивисті сім'яні каналці щільно прилягали один до одного, мали округлу або овальну форму. Шари базальної мембрани сім'яних каналців зберігали свою орієнтацію, набрякових явищ не спостерігалось. На базальній мембрані були присутні 4-5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини були представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу. На бічних поверхнях клітин Сертолі

знаходилися бухтоподібні заглиблення, до яких примикали сперматоцити і сперматиди, що диференціювалися. Великий діаметр сім'яних каналців збільшувався до  $0,252 \pm 0,036$  мм ( $p < 0,005$ ). Цитоплазма сперматогенних клітин була гіпохромна (рис.2).

Рис.2. Яєчко щура після вживання настоянки ехінацеї пурпурової. Забарвлення метиленовим синім. Збільшення  $\times 400$ . 1 - звивистий сім'яний каналець; 2 – базальна мембрана; 3 - сперматогенний епітелій; 4 - сперматиди. Помірний набряк інтерстиційної тканини.

Яєчка щурів, що отримували 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової, на другий день її вживання набували наступних змін. Білкова оболонка яєчок залишалася такою ж, як і в яєчках тварин попередньої групи, клітинної інфільтрації не відзначалося. Звивисті сім'яні каналці щільно прилягали один до одного, мали округлу, овальну або повздовжню форми. Між сім'яними каналцями набрякової рідини у вигляді скупчень вакуолей не спостерігалось. Шари базальної мембрани сім'яних каналців зберігали свою орієнтацію, набрякових явищ не простежувалося. На базальній мембрані були присутні 4-5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини були представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу: від сперматогоній до сперматозоїдів, які у великій кількості скупчувалися у просвіті каналців. Клітини Сертолі виразно диференціювалися на базальній мембрані каналців у вигляді клітин з гіпохромною цитоплазмою і пікнотичним ядром. На верхівках люмінальних частин клітин Сертолі знаходилися бухтоподібні заглиблення, до яких примикали сперматоцити і сперматиди, що диференціювалися. Виразно позначалися зрілі сперматозоїди з гіпохромною цитоплазмою, що виходили у просвіт каналців хвостиками вперед. Великий діаметр сім'яних каналців був більшим, ніж у щурів у перший день вживання тваринами імуномодулятора, і досягав значення  $0,262 \pm 0,037$  мм ( $p < 0,005$ ) (рис.3).

Рис. 3. Яєчко щура на другий день вживання настоянки ехінацеї пурпурової. Забарвлення метиленовим синім. Збільшення  $\times 400$ . 1 – базальна мембрана сім'яного каналця; 2, 3 – клітини Сертолі; 4 - сперматоцити. Пікноз ядер клітин Сертолі з помірною зернистістю цитоплазми.

В яєчках щурів, що отримували 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової, на п'ятий день її вживання відбувалися наступні зміни. Білкова оболонка яєчок залишалася без суттєвих змін, клітинної інфільтрації не відзначалося. Звивисті сім'яні каналці щільно прилягали один до одного, мали округлу, овальну або повздовжню форми. В міжканальцевих просторах набрякової рідини не було. Зберігалася пошаровість базальної мембрани сім'яних каналців, явищ набряку не простежувалося. На базальній мембрані були присутні 5 шарів епітеліальних сперматогенних клітин. Клітини представлені на всіх стадіях сперматогенного циклу. Сперматозоїди в вигляді великих скупчень надходили у просвіт каналця. Клітини Сертолі виразно диференціювалися на базальній мембрані каналців у вигляді клітин з 2-3 пікнотичними ядрами. До заглиблень на люмінальній поверхні клітин Сертолі примикали сперматоцити і сперматиди, що диференціювалися в зрілі сперматозоїди. Великий діаметр сім'яних каналців був більшим, ніж у щурів у другий день вживання тваринами імуномодулятора, і досягав середнього значення  $0,265 \pm 0,034$  мм ( $p < 0,005$ ) (рис.4).

Рис. 4. Яєчко щура на п'ятий день вживання настоянки ехінацеї пурпурової. Забарвлення метиленовим синім. Збільшення  $\times 400$ . 1 – базальна мембрана сім'яного каналця; 2 – клітина Сертолі; 3 - сперматогонії; 4 - сперматозоїди. Активна продукції клітинами Сертолі сперматозоїдів.

### Підсумки

1. У порівнянні з яєчками контрольних щурів у структурах яєчок щурів, що одержували 7% спиртову настоянку ехінацеї пурпурової протягом п'яти днів, відбувалися незначні зміни у вигляді змін форми сім'яних каналців,



діаметр яких досягав значення  $0,226 \pm 0,030$  мм ( $p < 0,005$ ), збільшення кількості клітин сперматогенного ряду, відсутності розшарування базальної мембрани.

2. Показники середнього значення великого діаметра звивистих сім'яних каналців яєчок щурів, що вживали імуномодулятор, збільшувалися на другий день вживання імуномодулятора до  $0,262 \pm 0,037$  мм ( $p < 0,005$ ) і на п'ятий день до  $0,265 \pm 0,034$  мм ( $p < 0,005$ ) у порівнянні з тваринами контрольної групи, що свідчило про покращення сперматогенної функції яєчок.

**Перспектива подальших досліджень** полягає у визначенні морфологічних змін в яєчках щурів у більш пізні терміни дії 7 % спиртової настоянки ехінацеї пурпурової.

### **Літературні джерела**

#### **References**

1. Avtandilov GG. [Medical morphometry]. Moscow: Medicine; 1990. 356 p. Russian.
2. Bagriy MM, Dibrova VA, Popadinets OG, Grischuk MI. [Methods of morphological research]. Vinnitsa: The New Book; 2016. 295 p. Ukrainian.
3. Pastukhova VA. [Damage to the testicular spermatogenic epithelium caused by the action of chronic hyperthermia]. Morphology. 2009; 3 (40): 51-54. Ukrainian.
4. Bulankin DG, Kurkin VA. [Definition of flavonoids in raw materials and preparations of ginkgo double-lipped]. Pharmacy. 2011; 59(2):12-14. Russian.
5. Ruban OA, Malinovska SA, Al-Tovitti [Definition of physico-chemical and pharmacological properties of dry extract of hops of common cones]. Pharmaceutical Journal. 2012; 4: 67–70.
6. Musica NYa, Kostenyan MS, Palamar AO [Analysis of the pharmaceutical market of Ukraine for the treatment of prostatitis]. In: [Proceedings of the III scientific-practical conference: Pharmacoeconomics in Ukraine. Status and prospects of development; 2010; February 25–26; Kharkiv, Ukrainian]. Nauka; 2010. p. 244–245. Ukrainian.

7. Krutskih TV, Dathaev UM. [Substantiation of the choice of suppository basis for Altabbor suppositories]. Pharmacy of Kazakhstan 2015; 5: 56–60. Ukrainian.
8. Krutskih TV [Study of the pharmacological and technological properties of the substance altabor]. Odessa Medical Journal. 2015; 4: 11–13. Ukrainian.
9. Gritsenko VI, Ruban OA [Research of powders of plant extracts for the purpose of creation of suppositories for the treatment of diseases of the prostate gland]. Pharmaceutical magazine. 2013; 4: 92–95. Ukrainian.
10. Klishch IM, Drogozov SM [Investigation of the Effects of Combined Pills and Echinacea Extract Substance on Immune System Indicators]. Pharmaceutical magazine. 2012; 2: 112–116. Ukrainian.
11. Koval VM, Groshovy TA. [Research on the choice of excipients to obtain zinc tablets of asparaginate with ascorbic acid and Echinacea extract]. Pharmaceutical magazine. 2013;1:74–78. Ukrainian.

## **ПОСЛЕДСТВИЯ ДЕЙСТВИЯ 7% СПИРТОВОЙ НАСТОЙКИ ЭХИНАЦЕИ ПУРПУРНОЙ НА МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ ЯИЧЕК КРЫС**

Е.Н. Шарапова

**Реферат.** В результате проведенного исследования установлено, что иммуномодулятор 7% спиртовая настойка эхинацеи пурпурной в яичках крыс опытной группы вызывает незначительные морфологические изменения в виде увеличения количества эпителиальных слоев до 4-5, появлении большого количества клеток на всех стадиях сперматогенного цикла. Также установлено, что после употребления животными 7% спиртовой настойки эхинацеи пурпурной между прослойками базальной мембраны количество жидкости не увеличилось. Между клетками Сертолли, миоидными клетками восстанавливались десмосомные контакты.

После введения животным 7% спиртовой настойки эхинацеи пурпурной морфологические изменения в яичках определялись в расширении площади сперматогенной ткани, что проявилось в увеличении среднего значения

большого диаметра извитых семенных канальцев до  $0,265 \pm 0,034$  мм. Определено, что эндокриноциты располагались между семенными канальцами в интерстициальной ткани близко к кровеносным сосудам.

**Ключевые слова:** настойка эхинацеи пурпурной, крыса, яичко, извитые семенные канальца.